

$\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を用いた水銀中毒に関する実験的研究

第 1 編

臓器内に於ける蛋白結合水銀及び遊離水銀に関する研究

岡山大学医学部公衆衛生学教室 (主任: 緒方正名教授)

大学 院 生 只 友 淳 雄

〔昭和 37 年 8 月 16 日受稿〕

緒 言

水銀中毒は鉛中毒と共に重金属による職業性疾患のうちで最も重要なものの一つである。古くはローマ時代 Pilny, Elder により Almaden 鉱山の奴隷達の中に水銀中毒の発生を認め、15 世紀の中頃 Andrea Mattioli¹⁾ が Monte Amiata 鉱山の労働者の中に水銀中毒患者の発生を報告している。以後、欧米諸国に於いても、我国に於いても現在までに職業性水銀中毒の研究が多数報告されている。²⁾⁻²²⁾ 又、近代産業の発達と共に水銀の用途は拡大し、それに従って中毒の発生もその様相をかえ、多方面にわたって発生する様になった。産業方面では雷汞の製造工場²³⁾、帽子用毛皮加工工場²³⁾、フェルト製造工場²³⁾、体温計並びに各種計器工場、²³⁾²⁴⁾²⁵⁾ タングステン棒製造工場²⁶⁾ の労働者、或はアマルガム鍍金、²³⁾ 電光ニュース²⁷⁾ 操作者等に水銀中毒の発生を見るに至った。殊に最近では水銀農薬が進出し糸状菌胞子に有害に作用するため、これらの感染防止の農薬として相当広く利用され、これによる中毒の発生も軽視出来ない。²⁸⁾³⁰⁾

一方、水銀は医薬品としても重要であり、駆梅剤として 16 世紀の初頭より軟膏の形で使用されて来た。又、瀉下剤として甘汞が用いられ、利尿剤として Novasurol, Meralyt and Theophylline, Chlormerodrin, Meralluride, Mercurphylline Sodium 等が浮腫の治療に用いられ、その反復使用により体内に徐々に水銀が蓄積して時に重い水銀中毒の発生を見ることがあった。³²⁾ 最近では殺精子剤としてフェニール酢酸水銀³⁷⁾ が、又、制癌剤としてヘマトフォルフィン水銀が用いられる様になり、利尿剤と同様長期にわたって頻りに反復使用すると軽度ながら吸収による中毒の発生の懸念がないとは言えない。水銀は又消毒剤として防疫上、昇汞, Merthiolate (マーゾニン) 等が強力かつ確実な薬剤として用いられている。

この様に水銀は産業上、防疫上、医療上重要かつ広い用途を有し、しばしば中毒の発生を見ている。

水銀に関する生体内分布の研究は、既に 19 世紀末から行われていて、²⁹⁾³⁰⁾ 最近では化学的定量法による Fitzhugh³¹⁾, William, ³³⁾ Stock, ³⁴⁾ Flury, ³⁵⁾ Gily Gil³⁶⁾ 及び当教室に於ける小林⁴⁹⁾ 等の研究がある。又、近年は放射性同位元素が生物学的実験にも使用されるに至り、実験手段が簡易化され、水銀の臓器内分布の研究に於いても放射性水銀を用いた Adam, ³²⁾ Swensson, ³⁷⁾ Friberg, ³⁸⁾ Patrica, ³⁹⁾ Bergstrand, ⁴⁰⁾ Prickett, ⁴¹⁾ Minor, ⁴²⁾ Lipman, ⁴³⁾ 加藤, ⁴⁴⁾ 松田, ⁴⁵⁾ 西連寺, ⁴⁶⁾ 鈴木⁴⁷⁾ 及び当教室に於ける小林⁴⁹⁾ 等の研究成績が報告されている。

一方、水銀中毒の本態は生体内に於いて水銀が細胞の蛋白質と結合し Albuminate を形成して蛋白沈澱による腐蝕作用を現わす事実、及び体細胞内に存在して酸化還元系に重要な働きをしている酵素や蛋白質の SH 基と結合して Mercaptide を形成し、その機能を阻害する事があげられる。後者に関しては PCMB (ρ -Chloro-mercuribenzoate) を用いた Olcott & Fraenkel-Conrat⁵¹⁾ の研究、コハク酸脱水素酵素の阻害並びに Dithiol 類 (BAL とその誘導体) による再賦活を報告した Barron & Kalnitsky⁵²⁾ の研究等がある。

この様に水銀の毒性は蛋白質との結合によつて發揮されるものであるが、上述の現在までの水銀の生体内分布の研究は、各臓器に於ける総水銀 (蛋白結合水銀 + 遊離水銀) についての in vitro の成績であり、in vivo に於ける蛋白質と結合した水銀の研究はない。著者は生体内に投与された水銀は、一部は組織蛋白と結合して存在し、他は非蛋白結合の状態で存在するものと推測し、両者の割合について具体的な関係を明かにするために、放射性水銀 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ 投与後の海豚の臓器 Homogenate 並びに血液中の各成分について基礎的研究を行い以下に示す如

き結果を得たので報告する。

実験材料

1. 放射性同位元素 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ の調整

本実験に使用した放射性水銀は、社団法人日本放射性同位元素協会より送付された OAK RIDGE NATIONAL LABORATORY (OAK RIDGE, TENNESSEE) 製の硝酸溶液に溶解した $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ である。

放射性水銀 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ の半減期は 43.5 日、その放射線エネルギー (Mev) は β 線 0.205, γ 線 0.286 であり、⁵³⁾ その取扱については十分に留意し、特に、 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を取扱う実験器具はアイソトープそれ自身からの汚染をさけるために一般実験器具とは区別して取扱った。

2. 実験動物

実験動物として体重 400 gm ないし 600 gm の健康な海猿を用い、実験 1 週間前から豆腐粕(おから)を用いて飼育し、その健康状態を確かめた後に実験に供した。なお、海猿の飼育環境は 15°C 前後に保った。

3. 実験器具並びに試薬

i 実験器具

a. Universal Homogenizer HB Type

- b. Well Type Sincillation Counter (放射性水銀 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ の γ 線を測定するので、 γ 線に対し感度の優れたものを使用した。⁵³⁾)
- c. 試料皿 (試料の乾燥の際に腐蝕による変化を受けないガラス製のものを使用した。)
- d. 自動直示天秤
- e. Cellophane 紙 (透析膜として、試料の透析に用いた。分子量 13,000 迄透析可能である⁵⁷⁾。)

ii 試薬

- a. 0.25 Mol Sucrose 溶液
- b. Heparin Sodium
- c. 0.9 % 生理的食塩水

実験方法

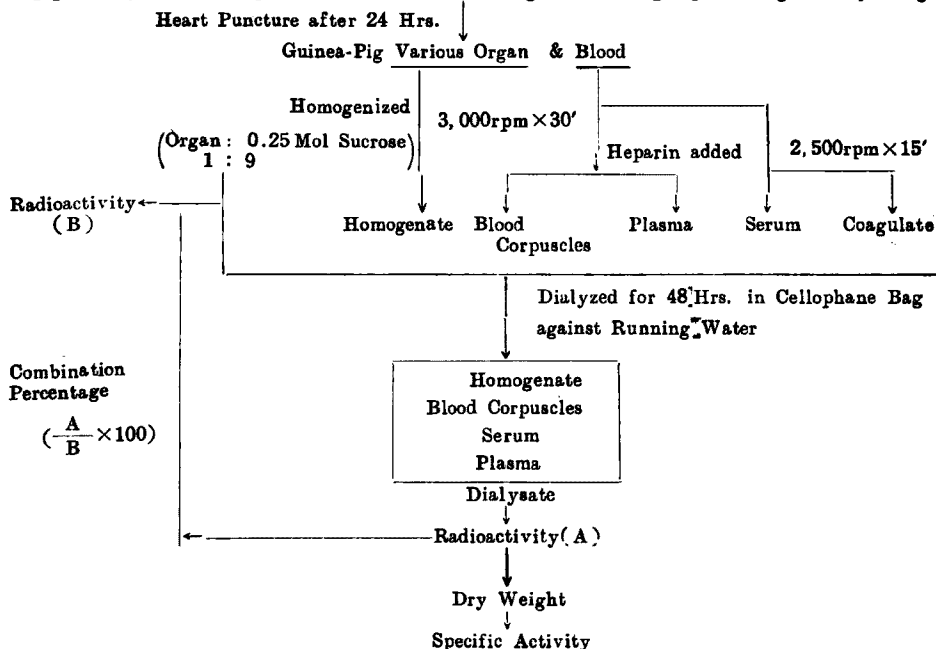
1. 放射性水銀 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ の投与

その大要は第 1 表に示す如くである。即ち硝酸溶液に溶解した $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ の原液に蒸留水を加えて 0.2 ml の溶液の中に 600,000 cpm の $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を含有する様に釈稀し、海猿の体重 1.0 kg 当り 6,000,000 cpm (水銀として 0.13 mg/kg) の $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を背部筋肉内に注射した。

Table 1: Experimental Method on Distribution of $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ in Various Organs & Blood of Guinea Pig injected $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$

Experimental procedures

Guinea pig was injected with $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ Solution containing 6,000,000 cpm per 1.0 kg of Body Weight



2. 臓器の剔出

注射後、海猿を絶食せしめて、24時間後に完全に乾燥させた注射器を用いて溶血を起させない様に心臓穿刺によつて採血した。採血後、組織より血液を除く目的で更に頸動脈切開放血法⁵⁴⁾により海猿を失血死に致らしめ、直に腹部切開を行なつて肝臓、脾臓、腎臓の順に剔出し、開頭、開胸によつて脳髓及び心臓を剔出した。

3. Homogenate の調製⁵⁵⁾⁵⁹⁾

海猿の各臓器の全重量をそれぞれ秤量した後、シャーレ中で氷冷 0.25 Mol Sucrose 溶液を用いて洗滌し血液を除き、各臓器の一部を切り取つて鉄でこまかくききざんだ。この臓器を 1.0 mm Mesh のうらごしにかけて大部分の結合組織を除去し、各臓器 1.0 gm 当り氷冷 0.25 Mol Sucrose 溶液 9.0 ml の割合に加えて Waring Blender(Universal Homogenizer HB Type) によつて各臓器の Homogenate を調整した。

Homogenate の作成に当つては Waring Blender の回転熱による臓器細胞の自己融解をさけるために試料を氷片で充分に冷却しながら 20,000 rpm 3 分間作動させ、機械的力によつて細胞膜を破壊し均等な臓器 Homogenate を調整した。この Homogenate は 2°~5°C の氷室内に約10分間放置し上清の Homogenate を実験に使用した。

4. 血球、血漿及び血清の分離

一方、心臓穿刺によつて採血した海猿の血液より血球及び血漿を分離するために、血液の一部を遠心沈澱管に移して Heparin Sodium を血液に 1.0 mg/dl の割合に添加して、3,000 rpm 30分間遠心沈澱を行なつて血漿と血球に分離した。

更に、血液より血清を分離するために、その一部は Heparin を加えることなく Wassermann 氏試験管に移して、37°C 60分間、孵卵器中に斜めに放置した後、細いガラス棒で血餅を試験管壁からはがして氷室内に約30分間、直立に放置し血餅の収縮を促がし、2,500 rpm 15分間、遠心沈澱を行い血清を分離して実験に供した。

5. 臓器並びに血液の透析前後に於ける水銀の放射能値の測定

上述の方法で調整した海猿の肝臓、脾臓、腎臓、心臓及び脳髓の Homogenate 並びに血球浮游液(0.9%生理的食塩水)、血漿、血清の各 2.0 ml を Wassermann 氏試験管にそれぞれ移して Well Type Sincillation Counter により各試料の水銀の放射能値を測定した。

放射能値の測定後、各試料の全量を駒込ピペットにより Wassermann 氏試験管から各試料ごとに Cellophane 紙嚢に移し流水に対して透析を行なつた。(試料の移行の際には、試験管並びにピペットに試料が残らぬ様にするため、氷冷 0.25 Mol Sucrose 溶液 1.0 ml で数回洗滌し、各洗滌液をそれぞれの試料に加えた。)

透析⁵⁶⁾⁵⁷⁾⁵⁸⁾は各試料の微生物の発生、繁殖並びに蛋白質の変性を抑制するために、特に冬期を選び透析膜外液を絶えず 2°~5°C の低温に保ち、(水温が上昇する様な場合には膜外液に氷片を投入した。)且つ透析膜内と膜外での拡散速度を大きくするために、膜外液を絶えず流水によつて更新して濃度差を大きくする様に努め48時間透析を行なつた。

透析後、透析内膜の各試料の全量を再び駒込ピペットにより Cellophane 紙嚢から試料が残らぬ様、蒸留水 1.0 ml により前回と同様に数回洗滌し、Cellophane 紙嚢からの各洗滌液をそれぞれの試料に加えて、各試料ごとに 3 本の Wassermann 氏試験管に分注して透析後の試料の水銀の放射能値を測定した。なお、試料は 1 本の試験管に 2.0 ml 以内とした。

透析前後の各試料に於ける水銀の放射能値の測定にあつては、Well Type Sincillation Counter により 2.0 ml の試料を入れた Wassermann 氏試験管 各々 1 本につき、2 分間 2 回、放射能値の測定を行い各試料の 1 分間当りの水銀の放射能値の算術平均を求め、試料測定前後 2 分間 2 回の測定を行なつた自然計数値の 1 分間当りの算術平均を求めて、前者から後者を減じた放射能値を各試料の 1 分間当りの水銀の放射能値 (cpm) とし、透析前の放射能値に対する透析後の放射能値の百分率を算出して、海猿の臓器並びに血液蛋白に於ける総水銀量(蛋白結合水銀+遊離水銀)に対し蛋白質と結合した透析不能な水銀の割合を求めた。

6. 臓器並びに血液中の蛋白結合水銀の比放射能値の測定

海猿の肝臓、脾臓、腎臓、心臓及び脳髓の Homogenate 並びに血球、血漿、血清の各試料を前述と同様の方法に従つて、48時間流水中で透析し、透析後、透析内膜の各試料を Wassermann 氏試験管に採集し、Well Type Sincillation Counter によつてその水銀の放射能値を測定した。

試料は放射能値測定後、各試料ごとに駒込ピペットを用いて試料が残らぬ様に内径 5.0 cm、深さ 0.5 cm のガラス製の試料皿にその全量を移し、更に 1.0

ml の蒸留水で Wassermann 氏試験管を洗滌して、その洗滌液を試料皿に加えた。

試料皿に移した試料は 70°C 24 時間で完全に乾燥させた後、自動直示天秤によつて秤量して、予め測定した試料皿の重量を減じて各試料の乾燥重量とし、透析後の各試料の 1 分間当りの水銀の放射能値を各試料の乾燥重量で除し、海狸の臓器並びに血液各成分の乾燥重量 1.0 mg 当りの蛋白結合水銀の比放射能値を算出した。

7. 臓器並びに血液中の蛋白結合水銀の総含有量の算出

海狸に投与した $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ の総放射能値に対する肝臓、脾臓、腎臓、心臓、脳髓、血球及び血清中に含まれる蛋白結合水銀の総放射能値を百分率をもつて表し、これら臓器並びに血液中に投与した水銀量の何パーセントが蛋白結合水銀として分布するかを検討した。

即ち、海狸の各臓器 Homogenate 並びに血球、血清の一部をとり、透析後の乾燥重量を求め、予め秤量しておいた此等各臓器、血球、血清の総湿重量から総乾燥重量を算出した。なお、海狸の血球並びに血清の総湿重量の算出に際しては、全血液量を体重の 5.0%、⁵⁰⁾ Hematocrit 値を 45% ⁵⁹⁾ として求めた。

此の海狸の臓器並びに血球、血清の総乾燥重量に各組織の透析後の乾燥重量 1.0 mg 当りの蛋白結合水銀の比放射能値を乗じ、各臓器、血球、血清当りの蛋白結合水銀の比放射能値とし、更に投与水銀の放射能値で除し百分率を算出した。

1. 臓器含有蛋白結合水銀の算出法

$$\begin{aligned} \text{各臓器当りの蛋白結合水銀比放射能} &= \frac{\text{臓器総}}{\text{湿重量} \times \text{測定部分の臓器乾燥重量}} \times \text{乾燥臓器} \\ &\quad \text{測定部分の臓器湿重量} \\ 1.0 \text{ mg 当りの蛋白結合水銀比放射能} &= \frac{\text{各臓器蛋白結合水銀含有百分率}}{\text{投与水銀放射能値}} \times 100 \end{aligned}$$

$$\text{各臓器蛋白結合水銀含有百分率} = \frac{\text{投与水銀放射能値}}{\text{の蛋白結合水銀比放射能値}} \times 100$$

2. 血球部含有蛋白結合水銀の算出法

$$\begin{aligned} \text{全血球中の蛋白結合水銀比放射能} &= \frac{(\text{体重} \times 0.5\% \times 45\%) \times \text{測定部分の血球乾燥重量}}{\text{測定部分の血球湿重量}} \times \text{乾} \\ &\quad \text{燥血球} 1.0 \text{ mg 当りの蛋白結合水銀比放射能値} \end{aligned}$$

$$\text{血球部含有蛋白結合水銀百分率} = \frac{\text{全血球部蛋白}}{\text{投与水銀放射能値}} \times 100$$

3. 血清部含有蛋白結合水銀の算出法

$$\begin{aligned} \text{全血清中の蛋白結合水銀比放射能} &= \frac{(\text{体重} \times 0.5\% \times 55\%) \times \text{測定部分の血清乾燥重量}}{\text{測定部分の血清湿重量}} \times \text{乾} \end{aligned}$$

燥血清 1.0 mg 当りの蛋白結合水銀比放射能値

$$\text{血清部含有蛋白結合水銀百分率} = \frac{\text{投与}}{\text{全血清部蛋白}} \times \frac{\text{水銀放射能値}}{\text{結合水銀比放射能値}} \times 100$$

実験結果

1. 臓器蛋白並びに血液蛋白と水銀の結合率について

a. 透析法による測定

海狸の体重 1.0 kg 当り放射性水銀 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を 6,000,000 cpm (水銀として 0.13 mg/kg) 背部筋肉内に注射し、投与 24 時間後に腎臓、肝臓、脾臓、心臓、脳髓等の主要臓器の剔出を行い、各臓器の Homogenate を調整した。一方、血液は一部は Heparin を添加して血球部及び血漿部に分離し、他の一部は血餅及び血清部に分離した。これら試料はその水銀の放射能値を測定した後、透析を行い、透析後に再び放射能値を測定し、これら試料中の水銀の透析前放射能値に対する透析後の放射能値の百分率 $\left(\frac{\text{透析後の水銀放射能値}}{\text{透析前の水銀放射能値}} \right)$ の百分率) を求め、臓器並びに血液各成分中に含まれる総水銀量に対し蛋白質と結合した水銀量の比を調べ百分率で表わした成績が第 2 表、第 6 表 A 及び第 1 図である。そのうち第 2 表は実験を行なつた海狸各 6 例のそれぞれの測定値を示し、第 6 表 A 及び第 1 図は蛋白結合水銀の百分率及びその平均値を示したものである。

蛋白結合水銀は心臓に於いてその比が最も高く、心臓に含有される水銀の 73.8% が心臓組織蛋白と結合し、以下腎臓 73.0%、肝臓 72.0%、脾臓 71.0%、脳髓 66.8% である。即ち、臓器中に含有される水銀の約 67% 以上が臓器蛋白と結合した状態で存在する。血液中の総水銀量に対する蛋白結合水銀の割合は血漿部 62.7%、血清部 55.1%、血球部 49.4% であり、血漿部及び血清部の方が血球部よりもやや高き割合を示した。全体としては、臓器蛋白と結合した水銀は血液蛋白と結合した水銀よりも総水銀量に対する割合が高く、両者の間になりに蛋白結合水銀の割合に差異を認めた。

なお、透析の際に非蛋白結合水銀の全量が透析されるか否かについて実験を行なつた。即ち、各種濃度の $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ に 0.25 Mol Sucrose 溶液を加え Well Type Sincillation Counter により予め水銀の放射能値を測定したのち、Cellophane 紙嚢に各試料を移し、2°~5°C の流水中で透析⁵⁶⁾57)58)して透析膜内液を 24 時間目、48 時間目にそれぞれ上述の Counter

Table 2: Combination Percentage of Hg²⁰³ in Various Organs & Blood Components of Guinea pig after Dialysis [6,000,000 cpm/kg of Hg²⁰³(NO₃)₂]

Guinea-pig No.	No. 1			No. 2			No. 3			No. 4			No. 5			No. 6		
	410 gm			460 gm			500 gm			520 gm			460 gm			420 gm		
Body Weight	Homogenate	cpm after	Combination	Homogenate	cpm after	Combination	Homogenate	cpm after	Combination	Homogenate	cpm after	Combination	Homogenate	cpm after	Combination	Homogenate	cpm after	Combination
	Percentage	Dialysis	Percentage	Percentage	Dialysis	Percentage	Percentage	Dialysis	Percentage	Percentage	Dialysis	Percentage	Percentage	Dialysis	Percentage	Percentage	Dialysis	Percentage
Organs & Blood Components	HEART	135	98	72.6	110	79	71.8	351	259	73.8	213	159	74.6	258	193	74.8	101	75.2
	KIDNEY	69,928	51,397	73.5	70,111	49,849	71.1	49,264	36,406	73.9	57,257	42,485	74.2	49,404	35,076	71.0	37,234	27,702
	LIVER	1,252	921	73.6	2,353	1,652	70.2	2,620	1,879	71.7	2,198	1,644	74.8	1,440	1,021	71.1	1,219	862
	SPLEEN	513	349	68.0	495	352	71.1	1,362	986	72.4	864	614	71.3	693	510	73.6	321	224
	BRAIN	159	113	71.1	52	34	65.4	150	100	66.7	110	74	67.3	125	85	68.0	58	36
	PLASMA	1,569	947	60.4	2,103	1,408	67.0	2,018	1,235	61.2	1,552	992	63.9	—	—	—	2,667	1,627
	SERUM	2,357	1,394	59.1	3,180	1,675	52.7	2,803	1,513	54.0	1,576	897	56.9	1,217	659	54.1	2,567	1,376
	BLOOD CORPUSCLES	1,770	793	44.8	2,247	1,115	49.6	2,034	1,102	54.2	2,203	1,035	47.0	1,018	523	51.4	2,733	1,345

Note: % Stands for the percentage calculated as $\frac{\text{radio-activity of the material after dialysis}}{\text{radio-activity of the material before dialysis}}$

を使用し測定した。その結果、水銀の透析前放射能値に対する透析後放射能値の百分率の平均値は第3表Aに示す如く、24時間で2.66%、48時間で0.53%の残留を示し、非蛋白結合水銀のほとんど大部分が48時間の透析によつて流出するという結果を得た。

なお、透析膜内に加えた Sucrose も完全に透析された。

b. 塩析法による測定

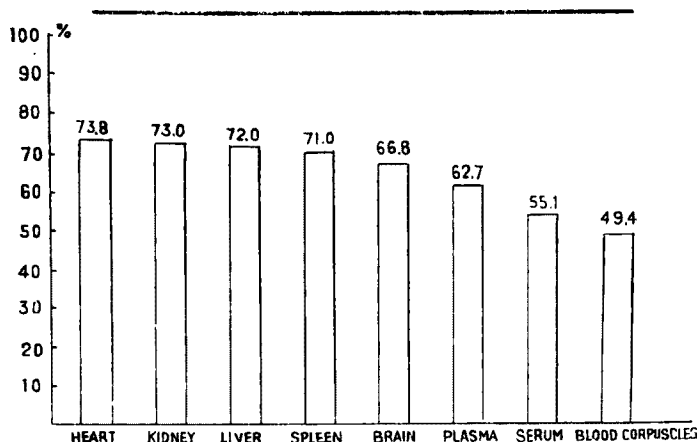
更に、塩析法に於いて透析法と同様に海猿背部筋肉内に体重1.0 kg 当り 6,000,000 cpm の Hg²⁰³(NO₃)₂ を投与し、投与24時間後の腎臓、肝臓、脳髓の Homogenate 並びに血清に於ける水銀の放射能値を Well Type Sincillation Counter で測定した後、各試料を飽和硫酸アンモン [(NH₄)₂SO₄] 溶液で塩析し、更に飽和硫酸で3回洗滌した沈澱に於ける水銀の放射能値を測定し、塩析前の放射能値に対する塩析後の放射能値を百分率で示すと第3表Bに於ける如く、腎臓76.7%、肝臓73.9%、脳髓61.9%、血清50.0%であり、各臓器並びに血清に於ける総水銀量(蛋白結合水銀+遊離水銀)に対する蛋白結合水銀の順序は透析の場合と同様の結果を得た。

2. 臓器並びに血液中の蛋白結合水銀の比放射能値について

臓器に含まれる総水銀量に関しては多くの研究があるが、29)・31)・37)・47)・49)・60)・64) 著者は本実験によつて海猿に投与した放射性水銀 Hg²⁰³(NO₃)₂ は、臓器並びに血液中に於いて一部は透析可能な遊離水銀の状態で相当含有されることを知つたので、組織中の透析不能な蛋白結合水銀を対象として臓器中並びに血液中の水銀量を調べて第4表、第6表B、第2図、に示す様な成績を得た。

海猿の腎臓、肝臓、脾臓、心臓、脳髓等の Homogenate 並びに血球、血漿、血清の各部分を透析した後、各試料に存在する透析不能な蛋白結合水銀の放射能値を測定し、その乾燥重量1.0 mg 当りの蛋白結合水銀の比放射能値 $\left(\frac{\text{透析後の蛋白結合水銀放射}}{\text{乾燥重量 1.0 mg}} \right)$

Fig. 1 : Combination Percentage of Hg^{203} in Various Organs & Blood Components of Guinea Pig after Dialysis



Note: % Stands for the percentage calculated as $\frac{\text{radio-activity of the material after dialysis}}{\text{radio-activity of the material before dialysis}}$

Table 3A . Hg^{203} Radioactivity Ratio in Cellophane Bag after $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ Dialysis

Guinea-Pig No.	cpm of Hg^{203} before Dialysis	cpm of Hg^{203} after 24 Hr. -Dialysis	Residual % after 24 Hr. -Dialysis	cpm of Hg^{203} after 48 Hr. -Dialysis	Residual % after 48 Hr. -Dialysis
No. 1	326,871	12,203	3.73	2,374	0.72
No. 2	113,298	2,948	2.60	672	0.59
No. 3	76,870	1,436	1.87	254	0.33
No. 4	57,230	1,422	2.47	275	0.48
No. 5	9,434	165	1.65	30	0.32
No. 6	1,208	35	2.90	8	0.66
No. 7	324	11	3.40	2	0.62
Mean	/	/	2.66	/	0.53

Table 4 . Specific Activity of Hg^{203} in Various Organs & Blood Components of Guinea Pig after

Guinea-pig No.	No. 1				No. 2				No. 3	
Body Weight	410 gm				420 gm				660 gm	
Organs & Blood Components	cpm	Dry Weight (mg)	cpm/mg	cpm/mg Inj.	cpm	Dry Weight (mg)	cpm/mg	cpm/mg Inj.	cpm	Dry Weight (mg)
KIDNEY	52,096	39.20	1,328.99	221.50	49,849	38.65	1,289.75	214.96	25,860	17.35
LIVER	1,919	54.00	35.54	5.92	1,597	42.00	38.02	6.34	895	25.00
SPLEEN	668	26.40	25.30	4.22	391	12.80	30.55	5.09	525	16.85
HEART	218	24.20	9.01	1.50	137	20.20	6.78	1.13	156	15.65
BRAIN	129	39.85	3.24	0.54	127	31.65	4.01	0.67	32	14.30
SERUM	2,729	53.40	51.10	8.52	2,346	53.90	43.53	7.26	1,078	19.00
PLASMA	1,358	36.40	37.31	6.22	1,952	50.90	38.35	6.39	1,172	27.85
BLOOD CORPUSCLES	645	143.10	4.51	0.75	1,115	177.00	6.30	1.05	1,102	175.10

Organ & Serum	Combination Percentage
KIDNEY	76.7
LIVER	73.9
BRAIN	61.9
SERUM	50.0

Tissue	cpm/mg
KIDNEY	224.09
SERUM	8.30
PLASMA	6.71
LIVER	5.75
SPLEEN	4.76
HEART	1.14
BLOOD	0.92
BRAIN	0.55

% stands for the percentage calculated as

$$\frac{\text{radio-activity of the material after salting-out}}{\text{radio-activity of the material before salting-out}}$$

Hg²⁰³(NO₃)₂ 投与 24 時間後の体重 1.0 mg 当りの投与水銀放射能値に対する乾燥重量 1.0 mg 当りの蛋白結合水銀の比放射能値は、腎臓 (224.09) > 血清 (8.30) > 血漿 (6.71) > 肝臓 (5.75) > 脾臓 (4.76) > 心臓 (1.14) > 血球 (0.92) > 脳髄 (0.55) の順序であり、腎臓に於いては組織蛋白と結合した水銀量は他の組織に比較して圧倒的に多い。即ち、血清の 27 倍、肝臓の 39 倍、脾臓の 47 倍、心臓の 156 倍、血球部の 244 倍、脳髄の 407 倍を示し、水銀は腎臓組織蛋白に極めて多量に存在することが認められた。血液中の蛋白結合水銀は血球部：血清部が 1：9、血球部：血漿部が 1：7 であつて血球部よりも血清部及び血漿部に高いことが認められた。

第5表は、投与水銀量の何パーセントが臓器蛋白結

			No. 4			No. 5			No. 6				
			610 gm			460 gm			460 gm				
$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm/mg}}{\text{Inj. cpm/mg}}$	cpm	Dry Weight (mg)	$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm/mg}}{\text{Inj. cpm/mg}}$	cpm	Dry Weight (mg)	$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm/mg}}{\text{Inj. cpm/mg}}$	cpm	Dry Weight (mg)	$\frac{\text{cpm}}{\text{mg}}$	$\frac{\text{cpm/mg}}{\text{Inj. cpm/mg}}$
1,490.49	248.42	24,786	18.80	1,318.40	219.73	38,592	30.95	1,246.91	207.82	48,468	34.80	1,392.76	232.13
35.80	5.97	814	26.50	30.72	5.12	1,421	44.65	31.83	5.31	1,305	37.45	34.85	5.81
31.16	5.19	416	12.80	32.50	5.42	450	15.55	28.94	4.83	370	16.30	22.70	3.78
9.97	1.16	142	14.00	10.14	1.69	196	21.45	9.14	1.52	133	19.70	6.75	1.13
2.24	0.37	60	15.50	3.87	0.65	78	18.45	4.23	0.71	30	14.30	2.10	0.35
56.74	9.46	2,021	37.40	54.04	9.01	2,019	41.85	48.24	8.04	2,007	44.50	45.10	7.52
42.08	7.01	2,050	47.95	42.75	7.13	/	/	/	/	2,213	55.15	40.13	6.69
6.29	1.05	258	53.40	4.83	0.81	532	102.2	5.21	0.87	440	72.60	6.06	1.01

Table 6: Specific Activity, Distribution & Combination of Hg^{203} in Various Organs & Blood Components of Guinea pig after Dialysis [6,000,000 cpm/kg of $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$]

Table 6A: Combination (Percentage)

Tissue Guinea Pig No.	HEART	KIDNEY	LIVER	SPLEEN	BRAIN	PLASMA	SERUM	BLOOD CORPUSCLES
No. 1	72.6	73.5	73.6	68.0	71.1	60.4	59.1	44.8
No. 2	71.8	71.1	70.2	71.1	65.4	67.0	52.7	49.6
No. 3	73.8	73.9	71.7	72.4	66.7	61.2	54.0	54.2
No. 4	74.6	74.2	74.8	71.3	67.3	63.9	56.9	47.0
No. 5	74.8	71.0	71.1	73.6	68.0	/	54.1	51.4
No. 6	75.2	74.4	70.7	69.8	62.1	61.0	53.6	49.2
TOTAL	442.8	438.1	432.1	426.2	400.6	313.5	330.4	296.2
MEAN	73.8	73.0	72.0	71.0	66.8	62.7	55.1	49.4
$\pm\sigma$	± 1.23	± 2.11	± 2.26	± 2.51	± 1.71	± 2.42	± 1.11	± 2.39

Note: % Stands for the percentage calculated as $\frac{\text{radio-activity of the material after dialysis}}{\text{radio-activity of the material before dialysis}}$

Table 6B: Specific Activity $\left(\frac{\text{cpm/mg}}{\text{Inj. cpm/mg}} \right)$

Tissue Guinea- Pig No.	KIDNEY	LIVER	SPLEEN	HEART	BRAIN	PLASMA	SERUM	BLOOD CORPUSCLES
No. 1	221.50	5.92	4.22	1.50	0.54	6.22	8.52	0.75
No. 2	214.96	6.34	5.09	1.13	0.67	6.39	7.26	1.05
No. 3	248.42	5.97	5.19	1.66	0.37	7.01	9.46	1.05
No. 4	219.73	5.12	5.42	1.69	0.65	7.13	9.01	0.81
No. 5	207.82	5.31	4.83	1.52	0.71	/	8.04	0.87
No. 6	232.13	5.81	3.78	1.13	0.35	6.69	7.52	1.01
TOTAL	1,344.56	34.47	28.53	8.63	3.29	33.44	49.81	5.54
MEAN	224.09	5.75	4.76	1.44	0.55	6.69	8.30	0.92
$\pm\sigma$	± 13.15	± 0.64	± 0.53	± 0.22	± 0.14	± 0.30	± 0.80	± 0.14

Table 5: Distribution of Hg^{203} in Various Organs & Blood Components of Guinea Pig after Dialysis

Guinea-pig No.	No. 1			No. 2			No. 3		
Body Weight	410 gm			420 gm			660 gm		
Organs & Blood Components	Dry Weight of Organ (mg)	cpm	Distribution Percentage	Dry Weight of Organ (mg)	cpm	Distribution Percentage	Dry Weight of Organ (mg)	cpm	
KIDNEY	573.48	762,149.19	30.98	597.38	770,470.86	30.57	931.91	1,389,002.54	
LIVER	3,108.02	110,459.03	4.49	3,237.53	123,090.89	4.88	5,050.54	180,809.33	
SPLEEN	146.66	3,710.50	0.15	150.68	4,603.27	0.18	235.05	7,324.16	
HEART	200.97	1,810.74	0.07	206.47	1,399.87	0.06	275.30	2,744.74	
BRAIN	441.87	1,431.66	0.06	453.95	1,820.34	0.07	708.20	1,586.37	
SERUM	530.30	27,098.33	1.10	543.24	23,647.24	0.94	853.66	48,436.67	
BLOOD CORPUSCLES	2,417.87	10,904.59	0.44	2,476.85	15,604.16	0.62	3,892.19	24,481.88	

Note: % Stands for the percentage of mercury combined with protein in tissue against the total

Tabl. 6C : Distribution (Percentage)

Tissue Guinea- Pig No.	KIDNEY	LIVER	SPLEEN	HEART	BRAIN	PLASMA	SERUM	BLOOD CORPUSCLES
No. 1	30.98	4.49	0.15	0.07	0.06	/	1.10	0.44
No. 2	30.57	4.88	0.18	0.06	0.07	/	0.94	0.62
No. 3	35.08	4.57	0.18	0.07	0.04	/	1.22	0.62
No. 4	31.27	3.95	0.19	0.08	0.07	/	1.16	0.47
No. 5	31.67	4.38	0.17	0.07	0.07	/	1.11	0.64
No. 6	32.96	4.47	0.14	0.06	0.04	/	0.97	0.60
TOTAL	192.53	26.74	1.01	0.41	0.35	/	6.50	3.39
MEAN	32.09	4.46	0.17	0.07	0.06	/	1.08	0.57
±σ	±1.53	±0.27	±0.10	±0.01	±0.03	/	±0.10	±0.07

Note: % Stands for the percentage of mercury combined with protein in tissue against the total amount of mercury injected

合水銀であるかを知るために、投与水銀の総放射能値に対する臓器並びに血液各成分当りの総蛋白結合水銀比放射能値を百分率（臓器並びに血液各成分当りの総蛋白結合水銀比放射能値の百分率）^{投与水銀の総放射能値}によって、実験を行なった海猿各6例についてそれぞれ示したものであり、第6表G及び第3図はその値の平均値を示したものである。

投与した水銀の総量に対し各臓器より検出された蛋白結合水銀の百分率は、腎臓 32.09% > 肝臓 4.46% > 血清 1.08% > 血球 0.57% > 脾臓 0.17% > 心臓 0.07% > 脳髓 0.06% の順序であつて投与水銀の1/3は蛋白結合水銀として腎臓に認められ、肝臓の8倍、血清の30倍、血球の56倍、脾臓の189倍、心臓の458倍、脳髓の535倍を示した。なお、肝臓の

場合は、乾燥重量 1.0 mg 当りの蛋白結合水銀の比放射能値が血清よりも低いが、肝臓乾燥総重量が血清乾燥総重量よりも重いために、肝臓に於ける蛋白結合水銀の総含有量は大きな値を示した。

総括並びに考按

中毒物質の研究に於いて、生体内にとり込まれた毒物が生体の如何なる臓器にどの様に分布しているか、即ち、毒物の生体内分布を研究することは毒物中毒の本態を究める上で或は治療上、予防上極めて重要なことである。

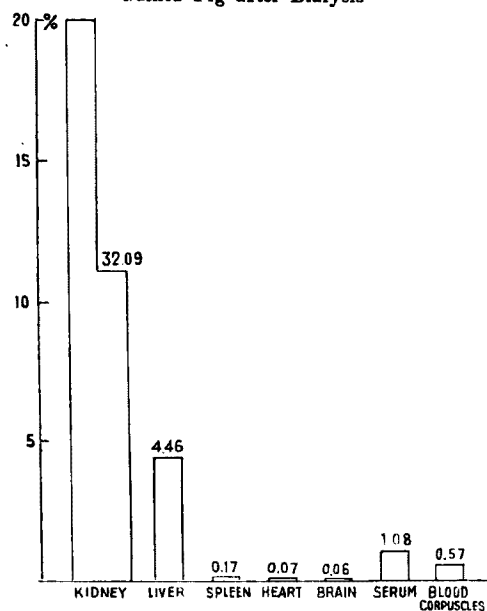
水銀中毒に於いても、この意味ですでに19世紀の末から Ludwig²⁸⁾, Ullmann³⁰⁾ 等によつて水銀の生体内分布の研究が始められ、最近では有機水銀化合物についてもいくつかの研究が報告されている。³¹⁾⁽⁴¹⁾⁽³⁷⁾⁽⁶⁰⁾⁻⁽⁶⁴⁾ しかし、これらの研究はすべて臓器

[6,000,000 cpm/kg of Hg²⁰³(NO₃)₂]

No. 4				No. 5				No. 6			
610 gm				460 gm				460 gm			
Distribution Percentage	Dry Weight of Organ (mg)	cpm	Distribution Percentage	Dry Weight of Organ (mg)	cpm	Distribution Percentage	Dry Weight of Organ (mg)	cpm	Distribution Percentage	Dry Weight of Organ (mg)	cpm
35.08	868.19	1,144,621.70	31.27	700.91	873,959.22	31.67	653.18	909,611.56	32.96		
4.57	4,705.20	144,543.74	3.95	3,798.74	120,912.62	4.38	3,539.71	123,358.55	4.47		
0.18	218.98	7,116.85	0.19	160.42	4,641.98	0.17	164.75	3,738.69	0.14		
0.07	300.08	3,042.81	0.08	220.28	2,012.63	0.07	225.78	1,523.48	0.06		
0.04	659.78	2,553.35	0.07	484.26	2,048.17	0.07	496.33	1,042.23	0.04		
1.22	788.79	42,626.21	1.16	635.01	30,632.40	1.11	592.51	26,726.26	0.97		
0.62	3,598.63	17,381.38	0.47	3,377.18	17,594.69	0.64	2,725.84	16,518.35	0.60		

amount of mercury injected

Fig. 3 : Distribution of Hg^{203} in Various Organs & Blood Components of Guinea Pig after Dialysis



Note: % Stands for the percentage of mercury combined with protein in tissue against total amount of mercury injected

中の総水銀（蛋白結合水銀+遊離水銀）について行われているものである。水銀の毒性に最も深い関係を有すると考えられるのは組織蛋白と結合した水銀であり、臓器内の蛋白結合水銀の分布状態を検討することは水銀中毒による臓器の機能障害と考え合せて極めて重要な意義を有するものと考えられるが、臓器内に於ける蛋白結合水銀の分布状態を捉えた研究は未だ見出せない。

著者は生体内に投与された水銀が生体の蛋白質とはたして結合しているかどうかを確かめるために、先づ予備実験として 0.25 Mol Sucrose 溶液に各種濃度の $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を加え流水中で透析を行い、透析開始後24時間で 97.3%、48時間で 99.5%が透析膜外液に流出して透析膜内には $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ は殆んど残留しないことにより、蛋白と結合しない遊離の $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ は48時間で殆んど透析されることを確めた。更に海猿に放射性水銀 $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ を投与し、投与24時間後の主要臓器の Homogenate 並びに血清を硫酸 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ で塩析し、更に硫酸で3回洗滌しても、なおその沈澱に水銀の放射能が残ることを認め、又これら臓器 Homogenate 並びに血液各成分を流水中で48時間透析し、透析膜内液に水銀の放射能の存在することを認めた。これらの事実によつて投与水銀が確かに組織蛋白と結合しているに違いな

いと推論した。

さて、蛋白質と水銀がどのような結合をするかについては、PCMB (ρ -Chloro-mercuribenzoate) を用いた Olcott & Fraenkel-Conrat⁽⁵¹⁾ の研究、Barron & Kalnitsky⁽⁵²⁾ のコハク酸脱水素酵素に於ける Hg, Pb, Sn, Bi, Co, Ni, Sb, Zn, Cd, Mg, Au, Ag 等の重金属を用いた研究、Friberg⁽⁵²⁾、松崎⁽⁵⁵⁾、及川⁽²⁴⁾、中村⁽⁵⁶⁾、増井⁽⁵⁷⁾ 等の水銀中毒時に於ける Cholinesterase の減少に関する研究等に見られる様に、水銀は体細胞内に存在し酸化還元系に重要な働きを演じている酵素或は細胞蛋白の SH基と結合し Mercaptide を形成して、これら酵素や細胞の機能を阻害すると考えられている。又、Haarman⁽⁵⁸⁾ は水銀がSH基以外に蛋白質の NH_2 基、 COOH 基とも結合していると主張している。以上のこれらの水銀と蛋白質が結合するという実験は in vitro の成績であつて、著者は in vivo に於いても蛋白質と水銀の結合がおり得ることを証明したので、更に各組織に於ける蛋白結合水銀の割合がどのような様になつていくかを検討するために、著者は放射性硝酸水銀を注射した海猿の主要臓器並びに血液中の総水銀量に対する蛋白結合水銀の割合を求めた。この著者の実験から各臓器に於ける蛋白結合水銀の占める割合を検討すると心臓73.8%>腎臓73.0%>肝臓72.0%>脾臓71.0%の順序であり、脳髓に於いては66.8%であつて、脳髓とこれら主要臓器間には総水銀量に対する蛋白結合水銀の割合にかなりの差異があることを認めた。又、血液中に於いては蛋白結合水銀の占める割合は血漿部62.7%、血清部55.1%に比較し血球部では49.4%であつて、臓器蛋白結合水銀と血液蛋白結合水銀の間には明かな差異があり、一方に於いて、血液中の各成分相互間にもその差異を認めた。

この様に蛋白結合水銀の占める割合が、生体組織によつて差異のあることは各組織に含まれる物質の特性によるのではないと思われる。特に脳髓に於いて透析可能な水銀が他の臓器に比較し多く、蛋白結合水銀が少くないことは Lipoid の含有量が脳髓に多いことに関係し、蛋白結合水銀の割合が少ないのではないと思われる。このことは Hughes⁽⁵⁹⁾ が水銀と Lipoid の反応の可能性を示唆していることに関係があるのかも知れない。

次に透析によつて流出する水銀については、組織中で単に遊離した水銀イオンとして存在するか、蛋白質よりも極めて小さい分子、例えば Cystein 等と結合しているのか、或は蛋白質と結合しているにしても比較的ゆるい離れやすい結合状態にあり、透

析中に離れるのではないかと考えられる。

著者が組織蛋白と結合した水銀について海猿の生体内分布状態を測定した結果、透析後の組織乾燥重量 1.0 mg 当りの蛋白結合水銀の比放射能値係数は、腎臓>血清>血漿>肝臓>脾臓>心臓>血球>脳髓の順序であり、腎臓に於いては総水銀(後述)のみならず組織蛋白と結合した水銀も極めて多量に存在していることが明であつた。腎臓に於いて蛋白結合水銀の乾燥組織重量 1.0 mg 当りの比放射能値が高かい原因としては次の様に解釈される。即ち、心臓、腎臓、肝臓、脾臓に於ける総水銀(蛋白結合水銀+遊離水銀)に対する蛋白結合水銀の比はほとんど同じであるから腎臓に蛋白結合水銀が極めて多いことは、腎臓に於ける総水銀量が圧倒的に多いことに原因し、その結果として腎臓組織蛋白と結合した水銀量が多いのではないかと考えられる。

又、投与した水銀の総量に対し各臓器より検出された蛋白結合水銀を百分率で見ると、腎臓(32.09%)>肝臓(4.46%)>血清(1.08%)>血球(0.57%)>脾臓(0.17%)>心臓(0.07%)>脳髓(0.06%)の順序であつて投与水銀の約 1/3 が蛋白結合水銀として腎臓に存在することを認めた。

ひるがえつて、投与水銀に対する臓器内に於ける総水銀(蛋白結合水銀+遊離水銀)の生体内分布に関する研究を見ると多くの報告がある。小林⁴⁹⁾は昇汞を海猿に投与し Dithizone 法により水銀を測定し、水銀の臓器内総含有量は腎臓>肝臓>血液>心臓>脾臓の順序であると報告し、又、 $\text{Hg}^{203}\text{Cl}_2$ を用いた実験に於いても同様の成績を得ている。Friberg⁶²⁾も家兎に於ける放射性水銀の分布状態について腎臓に最も多く、次いで肝臓>脾臓>血液>脳髓の順序であると報告している。しかしながら蛋白結合水銀についての成績は全く見られないが、著者の行なつた蛋白結合水銀の生体内分布については、これら諸氏の行なつた総水銀の生体内分布とはほぼ同様の順序であるという結果を得ている。又、松田⁴⁵⁾、加藤⁴⁴⁾の家兎を用いた Hg^{203} の実験に於いても腎臓>脾臓>肝臓の順序であり、William³³⁾も家兎による水銀蒸気吸入実験に於いて腎臓に圧倒的に多量の水銀の沈着を認め、三浦⁷⁰⁾も家兎の実験によつて水銀の分布が腎臓>肝臓>大腸の順であると報告し水銀が腎臓、次いで肝臓に集積性の強いことを認めている。

一方、水銀の腎臓に於ける集積性を病理組織学的に検討すると松田⁴⁵⁾、加藤⁴⁴⁾は腎臓の Radioautograph による実験で腎切片の周辺部、特に細尿管部に水銀の沈着が著明であり、検鏡によつて細尿管が著明に侵されていると報告し、黒田⁷¹⁾、菊地⁷²⁾の

実験的昇汞中毒家兎に於ける病理組織的变化は腎臓に於いて最も著明であり、その主たる病変部は細尿管主管部であつて壊死、滲漏腫脹、上皮細胞の退行変性であると報告している。又、Edwards⁷³⁾、Anderson⁷⁴⁾、伊藤⁷⁵⁾、田中⁷⁶⁾、沢山⁷⁷⁾等も同様の病的変化を認めている。又、大田原、緒方等⁵⁰⁾は水銀農薬工場に於ける実態調査によつて工員に蛋白尿を認めている。これらの事実によつて、水銀化合物が利尿剤に用いられている一因も、又、水銀が腎臓に対し集積性が大であることによると考えられる。これについて伊藤⁷⁸⁾によれば、水銀利尿剤は体内で比較的安全性の低い R-H の形で解離し、尿細管細胞の SH 酵素と特異的に作用してその活性を阻害し、能動的な再吸収機能を抑制することによつて尿量の増大を来し、組織化学的にも SH 酵素であるコハク酸脱水素酵素の阻害が認められ、この作用機序を要するものとして BAL (2・3 Dimercaptopropanol) 投与により阻害されていた SH 基が賦活され利尿が阻止される (Handley & La Forg・1947年) と述べている。

水銀中毒の時に肝臓が侵されることについては、菊地⁷⁹⁾、沢山⁷⁷⁾が水銀中毒時の肝臓の変化を病理組織学的に研究し、腎臓に比較すると軽度ではあるが肝臓の障害されることを認め、鈴木等⁸⁰⁾は肝臓の脂肪変性、富井⁸¹⁾は肝細胞索の解離、空胞変性、萎縮、星細胞の肥大、間質の鬱血等を報告している。又、肝臓機能と密接な関係のある血清中の Cholinesterase 並びに Alkaline Phosphatase が水銀中毒時に低下或は減少することを Friberg⁶²⁾、松崎⁶⁵⁾、及川²⁴⁾、中村⁶⁶⁾、増井⁶⁷⁾等が指摘している様に水銀により肝臓も侵されることは明であり、又 SH 酵素であるコハク酸脱水素酵素も肝臓に於いて障害されているのではないと思われる。

心臓についても、田坂⁸²⁾は水銀利尿剤を繰返し投与して体内に徐々に水銀が蓄積し、重い水銀中毒を発生した例につき、心電図上の変化として心房内又は心室内の刺激伝導障害、期外収縮(Wolff・1948年)が出現し、遂には心室細動で死亡する (Farah・1950年) と言われ、これは水銀が SH 基の作用を抑制するため、水銀利尿剤に SH 基を導入した Thiomerin は心臓に対する毒作用を除くことが出来た (Lehman) と述べている。

著者の行なつた実験から血液中の蛋白結合水銀について検討を加えて見ると、血漿部、血清部、血球部の総水銀量に対し蛋白結合水銀は血漿部 62.7%、血清部 55.1%、血球部 49.4%であつて透析によつて流出する水銀量が多く、又乾燥重量 1.0 mg 当り

の水銀量は血球部：血清部が1：9，血球部：血漿部は1：7であり，投与水銀量に対する血液中の蛋白結合水銀の割合は血清部＞血球部であり，又，血球部よりも血清部に乾燥重量1.0mg当りの蛋白結合水銀量が大であることを認めた。

この事はRay⁸³⁾，Weston⁸⁴⁾等が水銀利尿剤を使用した場合に水銀の大部分が血清中にあることを指摘していること，水銀利尿剤Chlormerodrinの水銀をLabellして行なつたBorghgraef⁸⁵⁾の実験で静注後の水銀の大部分を血漿に検出していること，Swenson³⁷⁾が放射性硝酸水銀を用いたラット，家兎，犬の実験で血清部に水銀の大部分が存在していると報告している結果と一致した成績を示している。蛋白結合水銀の分布が血清部よりも血球部に何故少ないかその理由は判然としないが，著者の実験によつても明かな如く，透析によつて50.6%の水銀が失われこるから，恐らく水銀は血球内にまで侵入しないか，又，侵入するとしても非常に僅かであり，その結合は血球膜の表面で行なわれているのではないかと考えられる。これについて林⁸⁶⁾は人血液を用いたin vitroの実験によつて人血球と水銀の結合について，一部は食塩水の洗滌で除去される水銀が存在し，又，一部はCa-EDTA(Calcium Ethylenediamine Tetraacetic Acid)の洗滌によつても除去されない強い非可逆的な結合をしている水銀の存在することを認め，洗滌によつて離れる水銀は細胞膜の表面に存在しているのではないかと推論している。又，血中水銀の実験的研究について勝沼等⁴⁶⁾がラットを用いたin vivoの研究で，血球部及び血漿部に透析可能な水銀が存在することを指摘している。

一方，血清中の蛋白結合水銀については，著者等⁹⁰⁾はHg²⁰³Cl₂を海狸に投与し，血清を分離して透析後の海狸の血清蛋白各分割に於ける水銀の結合について濾紙電気泳動法を用いて実験した結果，蛋白結合水銀はβ-Globulin＞γ-Globulin＞α-Globulin＞Albumin順序に高かく，Albuminに蛋白結合水銀が少ないことを認めている。

結 論

著者は生体内に於ける水銀の運命について，組織蛋白結合水銀について明かにするために，海狸の背部筋肉内に放射性水銀Hg²⁰³(NO₃)₂を体重1.0kg当り6,000,000cpm(水銀として0.13mg/kg)を投与し，24時間後の腎臓，肝臓，脾臓，心臓，脳髓，血球，血漿，血清等の放射性水銀の分布を透析前及び透析後に於いて測定し次ぎにのべる様な結論を得た。

1) 海狸に投与したHg²⁰³(NO₃)₂は生体内で透析不能な形で臓器蛋白並びに血液蛋白と結合して存在するものと，一部は透析可能な形で蛋白質と結合しない遊離の状態で存在するものが認められた。

2) 組織中の総水銀量に対する蛋白結合水銀($\frac{\text{透析後の試料の水銀放射能値}}{\text{透析前の試料の水銀放射能値}}$ の百分率)は，臓器相互間に於いては心臓＞腎臓＞肝臓＞脾臓の順序であり，臓器中の総水銀量に対し何れも70%以上が臓器蛋白結合水銀として存在した。これに反し，脳髓では67%であつて蛋白結合水銀の割合は低い値を示した。更に血液中の蛋白結合水銀の割合を血球部と血清部に分かつて比較すると，前者は49%，後者は55%であり血清部が高値を示したが，全体として血球部並びに血清部の蛋白結合水銀は臓器蛋白結合水銀より低い値を示した。

なお，塩析法によつても総水銀量に対する蛋白結合水銀は，腎臓76.7%，肝臓73.9%，脳髓61.9%，血清50.0%であつて透析法とはほぼ同様の順序であつた。

3) 組織蛋白と結合した水銀の分布は乾燥組織重量1.0mg当りに於いて，腎臓＞血清＞血漿＞肝臓＞脾臓＞心臓＞血球＞脳髓の順序であり，この方法で測定した場合には脳髓及び血球部の蛋白結合水銀は極めて微量であつた。とりわけ，水銀は腎臓組織蛋白に極めて多量に存在し，血清の27倍，肝臓の39倍，脾臓の47倍，心臓の156倍，血球部244倍，脳髓の407倍であつた。

更に，血液中では1.0mg当りの乾燥重量で比較すれば，血球部：血清部＝1：9，血球部：血漿部＝1：7であつた。

4) 血液並びに主要臓器に於ける投与水銀量に対する蛋白結合水銀は腎臓＞肝臓＞血清＞血球＞脾臓＞心臓＞脳髓の順序であり，Hg²⁰³(NO₃)₂投与後，24時間で腎臓にその32%が分布し，肝臓に4.4%，血清に1.1%，であり，血球部0.6%，脾臓0.2%，心臓0.07%，脳髓0.06%であつた。

5) 以上総括して，臓器内水銀の67%以上は臓器蛋白に結合しており，又水銀は腎臓組織蛋白に極めて多量に存在することが明かとなつた。

稿を終るに臨み，終始懇切に御指導並びに御校閲を頂いた緒方正名教授に深謝致します。又，御生前厚き御指導を頂いた故大田原一祥教授の霊に謹謝の意を捧げます。

(本論文の要旨は第34回日本産業医学会総会に於いて発表した。)

文

- 1) Biondi, C.,: Arch. Gewerbepath., 1, 754, 1931.
- 2) Letulle, M.,: Arch. d. Physiol., 1, 301, 437, 1887.
- 3) Leyden, E.,: Dtsch. Med. Wschr., 31, 733, 1893.
- 4) Braner, : Berl. Klin. Wschr., 267, 1897.
- 5) Schulte, H.,: Arch. f. Hyg., 43, 83, 1914.
- 6) Brinsky, P.,: Klin. Wschr., 10, 149, 1931.
- 7) Friberg, L., Hammarström, S., and Nyström, A.,: Arch. Ind. Hyg. & Occup. M., 8, 149, 1953.
- 8) 八木卓爾: 労働科学研究, 13, 751, 昭11.
- 9) 武居繁彦: 健康保険医報, 4, 24, 昭13.
- 10) 久保重考: 労働科学研究, 18, 732, 昭16.
- 11) 村上俊雄: 北海道医学雑誌, 21, 4, 昭18.
- 12) 村上精次: 産業医学, 3, 1, 昭24.
- 13) 橋場亮二: 北海道医学雑誌, 29, 324, 昭29.
- 14) 星合甚之助: 日本之医界, 18, 8, 昭3.
- 15) 鯉沼蒔吾: 労働科学研究, 2, 507, 大14.
- 16) 鯉沼蒔吾: 産業衛生講座, 5, 141, 昭13.
- 17) 鯉沼蒔吾: 臨床医学, 26, 462, 昭13.
- 18) 望月惇一: 東京医事新誌, 1445, 179, 明39.
- 19) 吳 秀三: 神経学雑誌, 17, 375, 大7.
- 20) 三浦謙之助: 神経学雑誌, 23, 167, 大12.
- 21) Flury, F.,: Münch. Med. Wschr., 25, 1021, 1926
- 22) Stock, A.,: Münch. Med. Wschr., 25, 1056, 1926.
- 23) Frank, A. Patty., Industrial Hygiene and Toxicology, Interscience Publishers. Inc., New York, II. 1949.
- 24) 及川富士雄: 労働科学, 31, 11, 1955.
- 25) 及川富士雄: 労働科学, 31, 137, 1955.
- 26) 鈴木継美: 産業医学, 1, 1, 1959.
- 27) 清水弥寿雄: 産業医学, 2, 3, 1960.
- 28) 上田喜一: 日本の医学の1959年, 第15回日本医学会総会学会記録, 1, 320, 昭34.
- 29) Ludwig, E., u. Zillner, : Wien. Klin. Wschr., 1889~1890.
- 30) Ullmann, . Arch. f. Dermatol. u. Syphilis, 25 (Ergänzung Heft), 221, 1893.
- 31) Fitzhugh, O. G., Nelson, A. A., Laug, E. P., and kunze, F. M.,: Arch. Ind. Hyg. & Occup.

献

- M., 2, 433, 1950.
- 32) Adam, K. R.,: Brit. J. Pharmacol., 6, 483, 1951.
- 33) William, F. A., Edward, J. L., Frank, R. D., Donald, M. H., & Morris, E.,: Arch. Ind. Hyg. & Occup. M., 7, 19, 1953.
- 34) Stock, A., und Cucuel, F.,: Angew. Chem., 47, 641, 1934.
- 35) Flury, F., u. Zernik, F.,: Schädliche Gase, Berlin, 234, 1931.
- 36) Gily Gil, : Zieglers Beiträge Z. Path. Anat. u. Z. Allgem. Path., 72, 624, 1924.
- 37) Swensson, A., et al.: A. M. A. Arch. Ind. Health, 20, 432, 1959.
- 38) Friberg, L.,: Acta. Pharmacol. et toxicol., 12, 411, 1956.
- 39) Patricia, W. D., Kenneth, G. S., and Joseph, G. H.,: University of California Press, Berkely and Los Angels, 1957.
- 40) Bergstrand, A., Friberg, L., and Odeblad, E.,: A. M. A. Arch. Ind. Health, 17, 253, 1958.
- 41) Prickett, C. S., Laug, E. P., and Kunze, F. M.,: Proc. Soc. Expt. Biol. & Med., 73, 585, 1950.
- 42) Minor, J. P.,: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 75, 63, 1950.
- 43) Lipman, R. W., Findle, R. D., and Gillete, D.,: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 77, 68, 1951.
- 44) 加藤義雄: 新潟医学雑誌, 70, 427, 昭31.
- 45) 松田勝一: 日本薬理学雑誌, 50, 238, 昭29.
- 46) 西連寺永康, 坂井千年, 浦田行道, 鈴木智哲, 山野博可, 佐々木美子: Radioisotopes, 9, 33, 1960.
- 47) 鈴木継美, 深山智代, 勝沼晴雄: 日新医学, 48, 11, 昭36
- 48) 勝沼晴雄, 鈴木継美, 深山智代: 日新医学, 48, 6, 昭36.
- 49) 小林霽三: 岡山医学会雑誌, 71, 7, II, 昭34.
- 50) 大田原一祥, 緒方正名他: 岡山医学会雑誌, 70, 11, 昭33.
- 51) Olcott, H. S., & H. Fraenkel-Conrat, : Chem. Rev., 32, 595, 1949.

- 52) Barron E. S. G., & Kalnitsky, G.,: *Biochem. J.*, 41, 346, 1947.
- 53) 山下久雄: *アイソトープの医学的応用*, 医学書院, 1954.
- 54) 阿南功一他: *医学領域に於ける生化学実験法*, 医学書院, 1954.
- 55) Schneider, W. C.,: *J. Biol. Chem.*, 176, 259, 1948.
- 56) Felix Haurowitz,: *Chemistry and Biology of Protein*, Academic Press Inc., Publishers, New York, 1950.
- 57) Hans Neurath, & Kenneth Bailey,: *The Protein*, 1, Part A, 1953.
- 58) 水島三一郎, 赤堀四郎: *蛋白質化学*, 2, 共立出版 昭29.
- 59) 林 香苗: *日本人並びに日本産医学実験動物の解剖学及び生理学計数*, 医学書院, 昭31.
- 60) Ahlmark, A.,: *Brit. J. Ind. Med.*, 5, 117, 1948.
- 61) Lundgren, K. D., & Swensson, A.,: *J. Ind. Hyg. & Toxicol.*, 31, 190, 1949.
- 62) Friberg, L., et al.: *A. M. A. Arch. Ind. Health*, 16, 163, 1957.
- 63) Friberg, L.,: *A. M. A. Arch. Ind. Health*, 20, 42, 1959.
- 64) Swensson, A., et al.: *A. M. A. Arch. Ind. Health*, 20, 467, 1959.
- 65) 松崎敏夫: *慶応医学*, 27, 318, 昭25.
- 66) 中村佐金吾: *労働科学*, 31, 200, 昭30.
- 67) 増井義弘: *奈良医学雑誌*, 8, 357, 昭32.
- 68) Haarman, J. W.,: *Biochem. Z.*, 314, 1, 1943.
- 69) Hughes, W. L.,: *Ann. New York Acad. Sc.*, 65, 454, 1957.
- 70) 三浦徳考: *千葉医学会雑誌*, 13, 2439, 昭10.
- 71) 黒田 直: *日本法医学雑誌*, 5, 241, 昭26.
- 72) 菊地桂助: *日本法医学雑誌*, 5, 93, 昭26.
- 73) Edwards, J. B.,: *Am. J. Path.*, 18, 1101, 1942.
- 74) Anderson, W. A. D.,: *Pathology*, The C. V. Mosby Co., St. Louis, 1957.
- 75) 伊藤 節: *愛知医学会雑誌*, 33, 1106, 大15.
- 76) 田中 治, 岡田隆夫, 須田哲夫, 芝武次郎: *感光色素*, 48, 35, 昭33.
- 77) 沢山 功: *神戸医科大学紀要*, 14, 1, 昭33.
- 78) 伊藤 宏: *薬理学*, 英光堂書店, 1962.
- 79) 菊地正三: *満州医学雑誌*, 16, 155, 昭7.
- 80) 鈴木直光, 中 脩三: *福岡医科大学雑誌*, 20, 644, 昭2.
- 81) 富井莊輔: *奈良医学雑誌*, 11, 1, 昭35.
- 82) 田坂定孝: *臨床中毒学*, 金原出版株式会社, 昭35.
- 83) Ray, C. T., et al.: *Am. J. Med. Science*, 220, 160, 1950.
- 84) Weston, R. E., et al.: *J. Clin. Invest.*, 30, 1221, 1951.
- 85) Borghgraef, R. R. M., et al.: *J. Clin. Invest.*, 35, 1055, 1956.
- 86) 林 朝舜: *産業医学*, 3, 4, 昭36.
- 87) 平出順吉郎: *SH の進歩*, 医学書院, 1954.
- 88) Weissmann, N., Schoenbach, E. B., and Armistead, E. B.,: *J. Biol. Chem.*, 187, 153, 1950.
- 89) Potter, V. R., and Elvehjem, C.,: *I. Biol. Chem.*, 114, 495, 1936.
- 90) 大田原一様, 緒方正名, 只友淳雄: *日本衛生学雑誌*, 15, 1, 1960.
-

Experimental Studies on Mercury Poisoning with the Use of $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$

I. A study on mercury combined with tissue protein and uncombined mercury

By

Atsuo Tadatomo

Department of Public Health Okayama University Medical School

(Director: Prof. Masana Ogata)

Author's Abstract

For the purpose of determining the distribution of mercury in various organs in mercury poisoning, above all, whether mercury is combined with tissue protein or not, the radio isotope mercury, $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$ in the dose of 6,000,000 c. p. m. /1.0 kg body weight (0.13 mg/kg of mercury) was injected into the dorsal muscle of guinea pigs, and the distribution of isotopic mercury was estimated in kidney, liver, spleen, heart, brain, blood cells, serum and blood plasma both before and after dialysis after 24 hours of the injection. As the result the following conclusion was drawn.

1. Some of the isotope, $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$, so injected into guinea pigs, has been found combined with organ protein and blood protein in a non-dialyzable state, while the other portion exists free without combining with protein in a dialyzable state.

2. The mercury combined with protein (the percentage calculated as $\frac{\text{radio-activity of the material after dialysis}}{\text{radio-activity of the material before dialysis}}$) differs considerably between the organs and the blood. The ratio of mercury combined with protein is found in the descending order of heart > kidney > liver > spleen, revealing all of those combined with more than 70 per cent of mercury to organ protein in a non-dialyzable state.

On the contrary, in the brain mercury combined with the protein is found to be 67 per cent, revealing a lower rate of mercury combined with protein. In comparing the mercury combined with protein in blood, the percentage of mercury combined with blood cells and that of blood plasma is 49 per cent in the former, while it is 55 per cent in the latter. Although the latter shows a higher rate, the mercury combined with protein in blood cells and blood plasma is lower than that in other organs. Furthermore, even by the salting-out method the mercury combined with protein to various tissue has been found 76.7 per cent in kidney, 73.9 per cent in liver, 61.9 per cent in brain, and 50.0 per cent in blood serum, showing the results approximately same as those obtained by dialysis.

3. In comparing the mercury distribution combined with tissue protein per 1.0 mg dry tissue weight, it has been found in the descending order of kidney > blood plasma > blood serum > liver > spleen > heart > blood cells > brain, indicating mercury combined with

protein is extremely minimal in the brain and blood. Mercury shows a marked quantity of the tissue protein of kidney, amounting to 27-fold that of blood plasma, 39-fold that of liver, 47-fold that of spleen, 156-fold that heart, 244-fold that of blood cells, and 407-fold that of brain.

In addition, when the quantity of mercury combined with protein in blood is compared as per 1.0 mg of dry protein weight, the ratio is blood cells: blood plasma equals to 1 : 9, while blood cells : blood serum equals to 1 : 7, respectively.

4. In blood and principal organs the total amount of mercury combined with tissue protein as against the total amount of the mercury injected has been found to be in the descending order of kidney > liver > blood plasma > blood cells > spleen > heart > brain. Twenty-four hours after the injection of $\text{Hg}^{203}(\text{NO}_3)_2$, of mercury injected, 32 per cent of it is distributed in the kidney, 4.4 per cent in the liver, 1.1 per cent in blood plasma, 0.6 per cent in blood cells, 0.2 per cent in spleen, 0.07 per cent in heart, and 0.06 per cent in the brain.

5. From these results it has been clarified that more than 67 per cent of mercury in organs combines with tissue protein and mercury has an extremely strong gathering to the tissue protein of kidney.
